



Sveriges lantbruksuniversitet

Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper

Intraoperativ mätning av kirurgisk stress hos hund

– Analys av katekolaminer i urin

Christoffer Westin

Uppsala 2012

Examensarbete inom veterinärprogrammet

ISSN 1652-8697

Examensarbete 2012:46

Intraoperativ mätning av kirurgisk stress hos hund

– Analys av katekolaminer i urin

Christoffer Westin

Handledare: Odd Höglund, institutionen för kliniska
vetenskaper, avdelningen för hund, katt och andra smådjur.

Biträdande handledare: Ann-Sofie Lagerstedt, institutionen för
kliniska vetenskaper, avdelningen för hund, katt och andra
smådjur.

Examinator: Bernt Jones, institutionen för kliniska vetenskaper,
avdelningen för klinisk kemi

Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2012.

Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för kliniska vetenskaper

Kurskod: EX0239, Nivå X, 30 hp

Nyckelord: kirurgisk stress, noradrenalin, intraoperativ, urin, katekolaminer, hund

Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>

ISSN 1652-8697

Examensarbete 2012:46

Sammanfattning

Syftet med denna studie var att utveckla en metod för intraoperativ mätning av kirurgisk stress hos hund. I en pilotstudie genomgick två hundar ovariehysterektomi där urinprover togs före respektive efter avlägsnande av båda äggstockarna med hjälp av urinkateter. Resultatet från pilotstudien, grupp A, visade att värdet av noradrenalin i urinen ökade efter avlägsnande av äggstockar, medan urinens koncentration av adrenalin inte ökade lika mycket. I en uppföljande studie, grupp B, genomgick 10 tikar ovariehysterektomi och där togs urinprover före respektive efter avlägsnande av första äggstocken. Blodtryck och hjärtfrekvens har registrerats varje minut under hela operationen. Endast noradrenalin analyserades i grupp B. Blodtryck och hjärtfrekvens steg hos 10/10 hundar och skillnaden var signifikant $p < 0,05$. Noradrenalin/kreatinin-kvoten steg från före till efter avlägsnande av första äggstocken men skillnaden var inte signifikant, 3/10 hundar hade lägre noradrenalin/kreatinin-kvot efter avlägsnande av äggstocken. Standardiserade värden av noradrenalin/kreatinin-kvot samt blodtryck och hjärtfrekvens visar att samtliga avviker negativt från medelvärdet före avlägsnande av äggstocken samt avviker positivt efter avlägsnande av äggstocken. Provtagningsmetoden innebär en felkälla då lite urin alltid finns kvar i urinblåsan vilket kommer att påverka resultatet i nästa provtagning. Att mäta noradrenalin i urin för att bedöma kirurgisk stress behöver utvärderas mer, framförallt måste tidsintervallet mellan provtagningarna optimeras för att fånga förändringen i noradrenalin/kreatinin-kvoten hos så många individer som möjligt.

Abstract

The purpose of this study was to develop a method to measure surgical stress intraoperatively in dogs. In a pilot study, group A, two dogs underwent ovariohysterectomy where urine was collected by catheterization prior and post removal of both ovaries. The results from the pilot study showed that noradrenaline concentration in urine increased with the surgical stimuli. Adrenaline concentration in urine didn't show the same pattern. In a follow up study, group B, ten bitches underwent ovariohysterectomy. In this study only noradrenalin was analysed and urine was collected prior and post removal of the first ovary. Blood pressure and heart rate were recorded every minute throughout the operation. Blood pressure and heart rate increased in all ten dogs from prior removal of first ovary to post, the difference was significant $p < 0.05$. The noradrenaline/creatinine-ratio tended to increase but the difference wasn't significant, three of ten dogs had lower ratio post removal of the first ovary. Standardized values of blood pressure, heart rate and noradrenaline/creatinine-ratio showed a negative deviation from mean prior removal of first ovary and a positive deviation post removal. The method used to collect urine is a source of error because some urine will always be left in the bladder, which will influence the result of next sample. Noradrenaline concentration in urine as a parameter for validation of intraoperative surgical stress needs to be investigated further, especially the time interval between the first and the second urine sample to be able to capture possible changes in noradrenaline concentration in as many individuals as possible.

Innehållsförteckning

1 Inledning

En viktig del i utvärdering av kirurgiska metoder är bedömning av postoperativ smärta. Den postoperativa smärtan påverkar djurets välbefinnande. Orsaken till den postoperativa smärtan är det stimuli av sensoriska afferenta nerver som kirurgin innebär. Kan man välja kirurgiska metoder som ger låg postoperativ smärta återhämtar sig patienten snabbare.

Det finns flera olika metoder för att bedöma smärta hos djur och barn. De baseras ofta på iakttagelser av beteenden som vokalisering, rörelse, aggression m.m och påverkas därför av individens normala beteende samt av observatörens uppfattning. Det finns också metoder som baseras på fysiologiska parametrar som exempelvis hjärtfrekvens och andningsfrekvens. Dessa parametrar påverkas av typen av anestesi/analgesi som använts (Kukanich et al 2011). Djur kan vid interaktion med skötare bli exalterade och därför framstå som smärtpåverkade utifrån protokollet. Flera studier har gjorts som indikerar att det är mycket svårt att påvisa ökad smärta med dessa metoder (Grisneaux et al 1999, Reese et al 2000, Lemke et al 2002). Det finns studier som visat goda resultat med dessa metoder men observatören har inte alltid varit blindad (Chad M Devitt 2005). Objektiva parametrar behövs för att ersätta de subjektiva observationsmetoderna.

Försök har gjorts för att hitta biomarkörer som är kopplade till smärta men det har visat sig att biomarkörerna är påverkade även av annan stress än den som kirurgin innebär (Le Bars et al 2001). Flera studier på kirurgisk stress har gjorts på katekolaminer och cortisol där man jämför postoperativa mätningar med ett nollprov taget före operationen startar (Hancock et al 2005, Chad M Devitt 2005). I den postoperativa perioden påverkar annan stress än den som operationen orsakar, till exempel sjukhusvistelsen. Genom att mäta biomarkörerna intraoperativt minskas påverkan av irrelevant stress. Eftersom den kirurgiska stressen utlöses av stimuli av sensoriska afferenter finns en koppling mellan stressrespons och postoperativ smärta om man antar att den postoperativa smärtan ökar när stimulit av sensoriska afferenter ökar.

De kirurgiska stimuli som djuret utsätts för under operation orsakar ett kroppsligt svar, så kallad kirurgisk stress. Kirurgisk stress kan delas in i tre grupper: neuro-endokrina svar, immuno-inflammatoriska svar samt hematologiska svar (Palsgaard Van Lue 2009). Flera olika indelningar har gjorts (Desborough 2000).

Stressresponsen syftar till att mobilisera energi från kroppsegna förråd så att det skadade djuret kan klara sig på mindre föda under läketiden. För sjukhuspatienten kan för mycket intraoperativ stress negativt påverka resultatet av operationen och längden på sjukhusvistelsen (Myles et al 2002, Parker et al 1995). Den kirurgiska stressen resulterar i tachycardi, hypertension, hyperglycemi, proteolys, lipolys som kan öka risken för ischemiska myokardskador, sårintektioner, komplikationer med läkningen och muskelfattiga patienter (Desborough 2000).

I de studier som gjorts på kirurgisk stress har mätningar av katekolaminer och cortisol framförallt gjorts i plasma och provtagning har utförts postoperativt.

När noradrenalin, NA, frisätts av sympatiska neuron vid motorendplattor i blodkärlens glatta muskulatur sker ett visst läckage till blodomloppet.

Halveringstiden i blodet är mycket kort, 10-15 sekunder (Sjaastad et al 2010), varför det är svårt att mäta förändringar av koncentrationer i plasma. En annan

orsak till att katekolaminer i plasma är svårtolkat är att metabolism och sympatisk innervering i olika organ skiljer sig så att platsen för var blodprovet tas påverkar resultatet (Hjemdahl 1987). I de studier som gjorts på kirurgisk stress har mätningar av katekolaminer och cortisol framförallt gjorts i plasma. Blodprover ger en ögonblicksbild av stresshormonnivåerna men med tanke på halveringstiden kan det vara svårt att relatera till förändringar i mer lättöverbakade fysiologiska parametrar som hjärtfrekvens och blodtryck (Ledowski et al 2010).

Genom att ta urinprover och analysera noradrenalin och adrenalin kan man kanske mäta läckaget av dessa till blodomloppet på ett bättre sätt. I urinen fås en poolning av de katekolaminer som utsöndrats, noradrenalin är stabilt i urin. Därmed får man en överblick av sympatikusaktiviteten under den tid som varit och eventuellt kan man relatera den till förändringar i fysiologiska parametrar. På hund har man använt analys av katekolaminer i urin främst som hjälpmedel för diagnos av pheocromocytom. Urinen har då varit spontankastad och i vissa fall tagen med cystosentes. Man har i dessa prover visat ökade nivåer av framförallt normetanephrine och metanephrine hos hundar med pheocromocytom. En studie har visat effekten av stress i form av sjukhusvistelse och där påvisat stegringar av adrenalin och noradrenalin. I studien visade man att hundarna blev stressade av såväl urinsamlandet som sjukhusvistelsen (Kook et al 2007).

Syftet med studien är att utveckla en metod för intraoperativ mätning av kirurgisk stress. Hypotesen är att kvoten noradrenalin/kreatinin stiger efter stimuli av sensoriska afferenta nerver i operationsområdet.

2 Bakgrund

Den endokrina stressresponsen

Vävnadshanteringen under operation stimulerar sensoriska afferenta nerver som i sin tur aktiverar hypothalamus. Hypothalamus aktiverar i sin tur det sympatiska nervsystemet och frisättning av stresshormon från hypofysen. Svaret syftar initialt till att sätta djuret i säkerhet vid fara, så kallad "fight and flight respons", men på sikt till att djuret skall kunna mobilisera kroppsreserver samt spara vatten och salt för att underlätta läkning och överlevnad under den period av minskat födointag som kan uppstå efter trauma (Desborough 2000).

Följande hormonkoncentrationer stiger i plasma i respons till kirurgi:

Adenocorticotrophormon-ACTH, cortisol, tillväxthormon-GH, argininvasopressin/ADH, samt aldosteron, adrenalin och noradrenalin (Desborough 2000).

ACTH och cortisol

Bara några minuter efter operationens start ses stegrade värden (Desborough 2000). Cortisol stimulerar proteinnedbrytning och gluconeogenes i levern. Cortisol stimulerar lipolys. Cortisol hämmar användandet av glucos i celler vilket leder till ett ökat blodsocker. Även inflammation hämmas, i synnerhet prostaglandiner. Normalt finns en feedback av cortisol på ACTH frisättning men efter operation fungera den ej som normalt varför både cortisol och ACTH nivåerna förblir höga efter operation (Desborough 2000).

Tillväxthormon-GH

Tillväxthormon utsöndras i relation till kirurgins omfattning (Desborough 2000). GH stimulerar proteinsyntes och hämmar protein nedbrytning. GH stimulerar

lipolys och har en anti-insulineffekt vilket innebär att celler hindras använda blodsocker.

Argininvasopressin / ADH

Viktigaste funktionen är att spara vatten genom att påverka densiteten av aquaporiner i njurarnas distala tubuli. Vid högre koncentrationer påverkar det också blodtrycket genom vasokonstriktion (Sjaastad et al 2010)

Aldosteron

Aldosteron stimulerar reabsorptionen av Na^+ och ökar sekretionen av K^+ i distala njurtubuli, vilket resulterar i vattenretention (Sjaastad et al 2010)

Sympatiska nervsystemet

Det autonoma nervsystemet består av sympatikus och parasympatikus.

Sympatikus aktiveras av hypothalamus som aktiveras av det kirurgiska stimuli, då frisätter postganglionära neuron katekolaminer (Palsgaard Van Lue 2009).

Anatomi

Sympatikus består av preganglionära och postganglionära neuron. De preganglionära neuronens cellkroppar sitter i ryggmärgens laterala horn. Sympatiska nerver mynnar ut ur bröstkotorna samt de första ländkotorna. De flesta av de sympatiska ganglia ligger i ett pärlband på varsin sida om ryggraden. Det finns också tre sympatiska ganglia i bukhålan, dessa postganglionära neuron innerverar digestionskanalen, levern, urinblåsan och genitalierna. De sympatiska nerver som innerverar binjurarna är preganglionära neuron direkt från ryggmärgen, dessa bildar synapser med sekretoriskaceller som egentligen är modifierade postganglionära sympatiska neuron utan axoner. De preganglionära neuronerna förgrenar sig och bildar synapser med flera postganglionära neuron (Sjaastad et al 2010).

Neurotransmittorer och receptorer

Alla sympatiska preganglionära neuron har acetylcholin som transmittor och kallas därför cholinerga. De sympatiska postganglionära neuronerna har noradrenalin (NA) som transmittor undantaget de modifierade postganglionära neuronerna i binjurarna som utsöndrar adrenalin (A) samt de cholinerga sympatiska neuronerna som innerverar svettkörtlarna. Oavsett om det är adrenalin eller noradrenalin som är transmittor kallas de för adrenerga neuron (Sjaastad et al 2010).

Receptorerna i ganglierna är av typen nikotin acetylkolin receptorer vilka är jonotropa och utgör en jonkanal. När acetylkolin binder öppnas kanalen och stimulerar cellen. Denna signalförmedling är mycket snabb. Receptorerna för adrenalin och noradrenalin är metabotropa, vilket innebär att de inte utgör en jonkanal men de kan mycket väl vara indirekt kopplade till jonkanaler via sitt G-protein. Det finns två typer; α och β , av dessa finns flera varianter (α_1 , α_2 , β_1 , β_2) och alla är G-protein kopplade. Effektorcellerna kan ha både alfa och beta receptorer och en receptortyp kan vara stimulerande på en cell men inhiberande på en annan. Alfa receptorererna är de vanligaste adrenerga receptorererna och har ungefär samma affinitet för adrenalin som noradrenalin (Sjaastad et al 2010).

Frisättningen av transmittor mot effektorcellerna sker inte i klassiska synapser. De autonoma neuronernas terminala grenar har små presynaptiska svullnader varifrån

transmittorer frisätts, effektorcellerna har flera receptorer på sin yta och behöver inte vara i direktkontakt med ett neuron då de blir översköjda med transmittorer (Ganong 2005).

Katekolaminer

Noradrenalin och adrenalin syntetiseras av tyrosin som omvandlas till dihydroxyphenylalanin, som blir dopamin, som blir noradrenalin, som blir adrenalin. Det hastighetsbestämmande steget är från tyrosin till dihydroxyphenylalanin. Både noradrenalin och adrenalin produceras i binjuremärgen, produktionens omfattning varierar mellan djurslag men är inte livsviktig då noradrenalin från de sympatiska nerverna är tillräckligt för bibehållen funktion (Sjaastad et al 2010). Katekolaminerna förvaras i sekretoriska vesiklar och frisätts genom exocytos. Katekolaminer från binjurarna cirkulerar fritt i blodet medan det mesta av noradrenalin från nervändar återupptas till neuronet, dock läcker ofta lite noradrenalin ut i cirkulationen. Enligt Eisenhofer 2001 är det endast 30 % av neurogent noradrenalin som förloras till metabolismen hos människa, resten återupptas till neuronerna. Metabolismen av cirkulerande katekolaminer sker framförallt i lever och njurar men lite utsöndras också i urinen. Halveringstiden i plasma är mycket kort, 10-15 sekunder enligt (Sjaastad et al 2010). Viss metabolism sker också ute i andra vävnader samt att innerveringen skiljer mellan olika vävnader varför samling av venöspasma för analys av sympatikusaktivitet inte alltid motsvarar förväntningarna (Hjemdahl 1987).

Reglering av blodtryck och hjärtfrekvens

Den kortsiktiga regleringen av blodtrycket regleras av det kardiovaskulära centrat i förlängda märgen. När det arteriella trycket sjunker registreras detta av baroreceptorer på fria nervändar i carotidsinusarna samt i aortabågen. Signalintensiteten minskar i dessa neuron och förmedlar informationen till förlängda märgen. I förlängda märgen jämförs signalen med en referens och om trycket är avvikande skickas kommandosignaler via autonoma nervsystemet till hjärta respektive glattmuskulatur i blodkärlen. Både minskning av parasympatikus och ökning av sympatikus leder till ökad hjärtfrekvens (HF) men bara ökad sympatikus leder till ökad myokardkontraktion. Ändringen i det autonoma nervsystemet leder till kontraktion av vener och artärer. Ett ökat venöst återflöde är en förutsättning för ökad slagvolym och tillsammans med kontraherade perifera artärer fås ett förhöjt blodtryck. $MAP = CO * TPR + CVP$, mean arterial pressure, cardiac output, total peripheral resistance, central venous pressure, (Sjaastad et al 2010).

Det finns också volymreceptorer ute i förmaken och i de stora venerna i bröstkorget. Dessa är känsligare för små ändringar i volym och tryck men väl aktiverade fungerar de på samma sätt som baroreceptorerna, (Ganong 2005). Den mer långsiktiga regleringen av blodtrycket sker via njurarna genom en reglering av blodvolymen. Om arteriella trycket ökar, ökar filtrationen i njurarna. Efter några dagar med avvikande tryck anpassar sig förlängda märgen och baroreceptorerna, ett nytt tryck antas som referens och regleringen anpassas därefter. Det finns högre system i hjärnan som kan påverka trycket genom att koppla förbi förlängda märgen, "fight or flight response" är ett sådant exempel.

Noradrenalin och adrenalin binder till β_1 -receptorer i hjärtmuskelcellernas membran vilket leder till ökat cytosoliskt Ca^{2+} och därmed ökad kontraktions kraft (Sjaastad et al 2010).

Cardiac output som är en funktion av hjärtfrekvensen och slagvolymen. CO är en del av funktionen för MAP. HF regleras av autonoma nervsystemet genom noradrenalins och adrenalins påverkan på cellerna i hjärtats sinusknuta.

Sympatikus gör att pacemakercellerna i sinusknutan lättare depolariseras vilket gör att hjärtat slår snabbare. Med högre HF fås högre CO och därmed högre MAP. Effekten av sympatikus på sinusknutan hänger kvar något då återupptaget av NA till nervändan tar en liten stund. Parasympatikus påverkan på sinusknutan (SA) och AV-knuta (AV) är snabb och avslutas snabbt då acetylkolinesteras i SA och AV bryter ned acetylketilinet (Sjaastad et al 2010).

Noradrenalin och adrenalin påverkar arteriolernas diameter. Noradrenalin stimulerar α -receptorer i arteriellerna vilket gör att de drar ihop sig, då ökar TPR vilket gör att MAP ökar.

3 Material och Metod

Studiens utformning

Uppsala djurförsöksetiska nämnd har godkänt försöken. Studien är en prospektiv klinisk studie utformad för att utvärdera om nivåer av NA respektive A i urinen ökar i respons till stimuli av sensoriska afferenta nerver i operationsområdet samt om nivåerna NA och A i urinen återspeglar förändringar i BP och HF hos hundar som genomgår öppen ovariehysterektomi (OHE).

Djuren

Pilotstudien, grupp A

Två kliniskt friska tikar deltog i studien, de vägde 19 respektive 31 kg.

Grupp B

Tio kliniskt friska tikar deltog i studien. Hundarnas medelålder var 44 ± 9.9 månader och hundarna hade en medelvikt på 23 ± 2.2 kg. Hos människor har man ej påvisat någon effekt av kroppsvikten på nivåer av katekolaminer i urinen (Gerlo et al 1991), troligen föreligger ingen sådan påverkan hos hundar heller.

Anaesthesi och analgesi

Hundarna premedicerades med acepromazin, carprofen och metadonhydroklorid, 30-40 min innan induktion av anestesin. De två hundarna i pilotstudien fick även glykopyrron som premedicinering. Anestesin inducerades med intravenös propofol och underhölls med isofluran i en syrgasblandning, koncentrationen varierade efter behov mellan 2-3%. Anestesins djup kontrollerades av erfarna anestesisköterskor och bedömdes subjektivt på käktonus, pupillstorlek, ögats position och hundens reaktion på kirurgiskt stimuli. Samtliga hundar andades spontant under operationen. Under operationen fick hundarna dropp, rehydrex med glukos intravenöst.

Operation - ovariohysterektomi

Samtliga operationer har utförts av samma kirurg. Urinkateter placeras innan induktion. Operationsområdet förbereddes aseptiskt, rakning och tvätt samt sprittvätt. Hunden placerad i dorsalläge. Hudsnittet inleds 2-3 cm cranialt om naveln och förlängs caudalt 10-20 cm beroende på storlek på hund. När *linea alba* snittats lokaliseras livmoder och äggstockar manuellt. Ett hål görs i breda livmoderligamentet och äggstockskräset kläms ihop med en peang. I krossfåran anläggs ligaturen efter att peangen flyttats närmre äggstocken. Äggstockarna ligerades med kirurgiskt buntband i pilotstudien, grupp A. I den uppföljande studien, grupp B, ligerades äggstockarna med tråd, två enkla icke förankrade suturer. Breda livmoderligamentet ligerades med tråd på samtliga hundar. Proceduren upprepades på motstående sida. Livmodern ligerades och kapades strax intill cervix med tråd. Innan buken stängdes utfördes hemostaskontroll. *Linea alba* och subkutanvävnad suturerades med resorberbart material, fortlöpande. Huden suturerades med icke resorberbart material.

Operationsfaser

Pilotstudie, grupp A

Operationerna har delats in i fyra faser efter hur det kirurgiska stimulit ansetts vara högre respektive lägre. I pilotstudien representerar fas 0 tiden från efter induktion fram till att buksnittet inleds. Fas 1 öppning av buk fram till att första äggstocken lokaliseras men ej manipulerats. Fas 2 fram till att båda äggstockarna respektive mesometriet ligerats och kapats. Fas 3 fram till att buken är sluten.

Grupp B

Operationerna har delats in i fem faser efter hur det kirurgiska stimulit ansetts vara högre respektive lägre för att kunna avgöra vilka moment som bidrar med mest stress. Fas 0 är tiden från efter induktion fram till att buksnittet inleds. Fas 1a buksnittet. Fas 1b paus efter buksnittet för att få steady state i BP och HF. Fas 2a fram till att första äggstocken ligerats och kapats. Första äggstock är omväxlande höger eller vänster. Fas 2b fram till att andra äggstocken ligerats och kapats. Fas 3 fram till att buken är sluten.

Provtagning

Pilotstudie, grupp A

Urinproverna är uttagna med urinkateter. I pilotstudien är fyra prover samlade, första vid induktion, andra efter buköppning, tredje efter ligatur samt kapning av båda äggstockarna och mesometrium, fjärde efter suturering av linea alba. Vid varje provtillfälle töms urinblåsan på urin.

Grupp B

Urinproverna är uttagna med urinkateter. I studien är sex prover samlade, första vid induktion, andra efter buköppning, tredje efter ligatur samt kapning av första äggstocken, fjärde efter en paus, femte efterligatur samt kapning andra äggstocken, sjätte efter suturering av linea alba. Vid varje provtillfälle töms urinblåsan på urin.

Registrering av BP och HF

Systoliskt blodtryck och hjärtfrekvens registrerades varje minut med en Lifewindow™ 6000 Digicare Biomedical Technology.

Kemisk analys

Katekolamin analyserna är gjorda med CatCombi ELISA från IBL-international och är ett mycket bra och säkert alternativ till High-performance liquid chromatography (Westermann et al. 2002).

Statistisk analys

Blodtryck och hjärtfrekvens presenteras som medelvärden i varje operationsfas för respektive hund som sedan slås ihop till ett medelvärde för gruppen för respektive fas. NA och A presenteras som kvoten NA/kreatinin respektive A/kreatinin. I pilotstudien har förändringarna i BP, HF, NA och A endast jämförts mellan fas 1 och fas 2, det vill säga före och efter avlägsnande av båda äggstockarna. I den uppföljande studien, grupp B, har endast förändringarna i fas 1 och fas 2a jämförts, det vill säga före och efter avlägsnande av första äggstocken. Skillnaden i medelvärden har analyserats med students t-test i Microsoft Excel. De standardiserade värdena har också beräknats i Excel. Regressionsanalyserna är beräknade med StatPlus:mac LE.2009 från AnalystSoft. Signifikansnivån sattes till $p < 0,05$.

4 Resultat

Resultat pilotstudien

Blodtryck

På båda hundarna var trenden stigande från fas 0 till fas 2, se tabell 1. En av hundarna fick blodtryckssänkning mellan fas 2 och fas 3. I tabellen ses medelvärden av de båda hundarna. Skillnaden i medelvärden mellan fas 1 och fas 2 var ej signifikanta, p-värde 0,43, se tabell 1.

Tabell 1. Systoliskt blodtryck (mmHg) under öppen OHE hos två hundar från Fas 0 före hudsnitt, fas 1 hudsnitt till öppen buk, fas 2 avlägsnande av båda äggstockarna, fas 3 ligering cervix samt buken sluts.

Pilotstudie	Fas 0	Fas 1	Fas 2	Fas 3
	89	102,5	113	112
Relation till föregående fas		13,5	10,5	-1

Hjärtfrekvens

Hos den ena hunden ökade HF från fas 1 till fas 2 men hos den andra sjönk HF från fas 1 till fas 2. Skillnaden i medelvärden mellan fas 1 och fas 2 var ej signifikant, p-värde 0,66, se tabell 2.

Tabell 2. Hjärtfrekvens (BPM) under OHE hos två hundar från fas 0 före hudsnitt, fas 1 hudsnitt, fas 2 avlägsnande av båda äggstockarna, fas 3 ligering cervix samt buken sluts.

Pilotstudie	Fas 0	Fas 1	Fas 2	Fas 3
	121,5	121	118	115

Relation till föregående fas	-0,5	-3	-3
------------------------------	------	----	----

Adrenalin

Båda hundarnas adrenalin/kreatinin-kvoter sjunker från fas 0 till fas 1 för att sedan öka under fas 2 och fas 3. Skillnaden i medelvärden mellan fas 1 och fas 2 var ej signifikant, p-värde 0,35, se tabell 3.

Tabell 3. Adrenalin/kreatinin-kvoter under OHE hos två hundar från fas 0 induktion, fas 1 hussnitt, fas 2 avlägsnande av äggstockar, fas 3 ligering cervix samt buken sluts.

Pilotstudie	Fas 0	Fas 1	Fas 2	Fas 3
	11,1	7,35	11,7	17,6
Relation till föregående fas		-3,75	+4,35	+5,8

Noradrenalin

Båda hundarna har stegrande Noradrenalin/kreatinin-kvoter från fas 1 till fas 2 som sedan sjunker under fas 3, se figur 1. Skillnaderna i medelvärden mellan fas 1 och 2 är ej signifikanta, p-värde 0,07.

Figur 1. Noradrenalin/kreatinin-kvoter för två hundar under Ovariehysterektomi från fas 0 induktion, fas 1 hussnitt, fas 2 avlägsnande av äggstockar, fas 3 ligering cervix samt buken sluts.

Resultat grupp B

Blodtryck

Samtliga av de tio hundarna visade en blodtrycksökning efter ligering av första äggstocken. Skillnaden före och efter avlägsnande av första äggstocken var signifikant $p < 0,0001$, se tabell 4. Fem av hundarna hade höger äggstock som första äggstock att avlägsnas. Ingen signifikant skillnad kunde ses i förändring av blodtryck före respektive efter avlägsnande mellan höger (19 mmHg) och vänster (24 mmHg) äggstock, p-värde 0,43.

Tabell 4. Systoliskt blodtryck (mmHg) under öppen OHE hos tio hundar från fas 1 hussnitt till och med fas 2a avlägsnande av första äggstocken.

Uppföljande studie	Fas 1b	Fas 2a
	77	97,5
Relation till föregående fas		+20,5

Hjärtfrekvens

Samtliga av de tio hundarna hade högre hjärtfrekvens efter avlägsnande av första äggstocken, skillnaden var signifikant p-värde $6,96E-05$, se tabell 5. Ingen signifikant skillnad kunde ses i förändring av hjärtfrekvens före respektive efter ligering mellan höger (16,5 BMP) och vänster (19,8 BPM) äggstock som första äggstock att avlägsnas, p-värde 0,55.

Tabell 5. Hjärtfrekvens (BPM) under öppen OHE hos tio hundar från fas 1 hudsnitt, till och med fas 2a avlägsnande av första äggstocken.

Uppföljande studie	Fas 1b	Fas 2a
	73	91
Relation till föregående fas		+18

Noradrenalin

Sju av tio hundar hade högre noradrenalin/kreatinin-kvot efter avlägsnande av första äggstocken, skillnaden var ej signifikant, p-värde 0,09, se tabell 6. Fem av hundarna hade höger som första äggstock att avlägsnas, ingen signifikant skillnad kunde ses mellan förändringen av noradrenalin/kreatinin-kvoten mellan höger (3,21) och vänster (0,52) äggstock, p-värde 0,33.

Tabell 6. Noradrenalin/kreatinin-kvoten för tio hundar som genomgår ovariehysterektomi under fas 1, hudsnitt respektive fas 2a avlägsnande av första äggstocken.

Uppföljande studie	Fas 1b	Fas 2a
	7,11	8,97
Relation till föregående fas		+1,86

Korrelation

Regressionsanalys mellan förändringen i NA/kreatinin och förändringen (fas 2a-fas 1b) i BP respektive förändringen i HF visade inget signifikant samband. (förändringen = fas2a - fas1). Med NA/kreatinin som oberoende variabel och HF som beroende variabel var R-värdet 0,16 och p-värdet 0,68. Med BP som beroende variabel var R-värdet 0,26 och P-värdet 0,49. Det fanns inte heller någon korrelation mellan NA/kreatinin-kvoten och BP eller HF före (fas 1b) eller efter (fas 2b) avlägsnande av första äggstocken.

Standardiserade värden

Plottning av standardiserade värden (Z-scores) av NA/krea, BP samt HF visar följande trender, se figur 2 och 3.

Figur 2. Visar hur många standardavvikelser från populationens medel som värdena avviker före respektive efter avlägsnande av första äggstocken, här NA/krea och BP.

Figur 3. Visar hur många standardavvikelser från populationens medel som värdena avviker före respektive efter avlägsnande av första äggstocken, här NA/krea och HF.

5 Diskussion

Syftet med studien var att undersöka om intraoperativ mätning av katekolaminer i urin utgör en bra parameter för mätning av kirurgisk stress. En hypotes var att kvoten katekolamin/kreatinin skulle återspegla förändringar i blodtryck och hjärtfrekvens. Urinprover togs före respektive efter avlägsnande av första äggstocken vid ovariehysterektomi på tik. Blodtryck och hjärtfrekvens registrerades under hela operationen.

Tendensen var att kvoten noradrenalin/kreatinin steg efter avlägsnande av första äggstocken. Blodtryck och hjärtfrekvens steg signifikant hos de tio hundarna i grupp B. De standardiserade värdena av noradrenalin/kreatinin visar hur värdena avviker negativt från medelvärdet före avlägsnande av första äggstocken medan de avviker positivt från medelvärdet efteråt men skillnaden var ej signifikant.

I pilotstudien var inga skillnader signifikanta för varken noradrenalin/kreatinin adrenalin/kreatinin, blodtryck eller hjärtfrekvens. Vid plottning av data sågs en trend där noradrenalin, blodtryck och hjärtfrekvens följde sensoriskt stimuli varför bara noradrenalin och inte adrenalin analyserades i grupp B.

Korrelationsanalyserna mellan noradrenalin/kreatinin och blodtryck respektive hjärtfrekvens var ej signifikanta, vilket troligen beror på den stora individuella spridningen i koncentrationer av noradrenalin.

Urinsamlingen innebär vissa felkällor då den mesta urinen samlas upp vid varje provtagning så att kreatinin respektive noradrenalin från föregående operationsfas ej påverkar koncentrationerna i nästa prov och ger missvisande resultat. En viss mängd urin kommer alltid att finnas kvar i urinblåsan vilket är en felkälla.

Under narkos är trycket lågt och därmed blir urinproduktionen lägre, mindre primärurin fås och mindre urinmängd finns att ta ut. Genom att öka tiden mellan proverna för att kunna få ut mer urin skulle man eventuellt kunna minska felen med för liten urinproduktion. En möjlig lösning är att använda protokollet från grupp A där båda äggstockarna tas bort i samma fas för att få tydligare utslag samt mer tid och därmed mer urin.

Under avlägsnande av äggstocken antas den sympatiska aktiviteten vara högre då stimulit av sensoriska afferenta nerver antas vara mer intensivt. Sympatikus aktivitet kontraherar den afferenta arteriolen till glomeruli vilket sänker filtrationen, ger minskat kreatininvärde och mindre urinmängd. Kreatinin koncentrationen minskar medan noradrenalin koncentrationen ökar i urinen och ger därmed en högre noradrenalin/kreatinin-kvot. Hos de tre avvikande hundarna

ökade både blodtryck och hjärtfrekvens från före till efter avlägsnande av äggstocken vilket tyder på en ökad sympatikusaktivitet som ej återspeglas i noradrenalin/kreatinin-kvoten i urinen. Hos de avvikande hundarna har filtrationen ökat men noradrenalinvärdet minskat. En rimlig förklaring till detta är att läckaget av neurogent NA till cirkulationen är så litet att det hinner metaboliseras innan det hinner filtreras ut i njurarna hos dessa tre individer. Möjligen är tiden mellan provtagningarna så kort att ytterst lite noradrenalin hinner ut i urinen. Det ökade kreatinin värdet kan bero på ökat MAP.

Antalet hundar i grupp B är lågt, trots det är p-värdet för förändringen av NA/kreatinin-kvoten relativt lågt, $p = 0,09$. Med fler hundar i studien skulle skillnaden möjligt bli signifikant.

Hos de tio hundarna i grupp B finns det tendenser till att hjärtfrekvensen reagerar snabbare på sensoriskt stimuli än blodtrycket. Hjärtfrekvensen sjunker snabbare efter stimuli medan blodtrycket förblir högt flera minuter. Hos de tre avvikande hundarna varierar ändringarna enligt likande mönster som hos övriga hundar.

6 Konklusion

Intraoperativ mätning av noradrenalin i urinen kan vara en bra parameter för mätning av kirurgisk stress men den måste studeras närmre och då bör tiden mellan provtagningarna optimeras för att fånga noradrenalinförändringen hos så många individer som möjligt. Om tre av tio hundar avviker från hypotesen och om det inte går att förfinas provtagningsmetoden och tidsintervallet för att minska antalet avvikande bör annan provtagningsmetod eller biomarkör studeras.

7 Tack till

Odd Höglund som varit en mycket förstående och uppmuntrande handledare. Positiv förstärkning har praktiserats under arbetets gång både under skrivandet och under förberedandet av presentationen.

Mattias Norrby för snabba svar på frågor gällande labbarbetet.

Lara Run Hallson för korrketurläsning och generella tips.

Litteraturlista

Vetenskapliga artiklar

Chad M. Devitt (2005) Duration, complications, stress, and pain of open ovariohysterectomy versus a simple method of laparoscopic-assisted ovariohysterectomy in dogs. *Journal of American veterinary medical association*. Vol.227. ss. 921-927

Desborough J. P. (2000) The stress response to trauma and surgery. *British journal of anaesthesia*, vol 85(1), ss.109-117.

Eisenhofer (2001) The role of neuronal and extraneuronal plasma membrane transporters in the inactivation of peripheral catecholamines. *Pharmacol Ther* vol.91 ss. 35-62

Ganong (2005) *Review of medical physiology*, Textbook.

Gerlo et al (1991) Age and sexrelated differences for the urinary excretion of norepinephrine, epinephrine and dopamine in adults. *Clin Chem* vol. 37, ss. 875-878

Grisneaux E, Pibarot P, Dupuis J, Blais D. (1999) Comparison of ketoprofen and carprofen administered prior to orthopedic surgery for control of postoperative pain in dogs. *Journal of the American veterinary association*. Vol 215, ss. 1105-1110.

Hancock et al (2005) Comparison of postoperative pain after ovariohysterectomy by harmonic scalpel-assisted laparoscopy compared with median celiotomy and ligation in dogs. *Veterinary surgery* vol. 34. Ss.273-282.

Kook et al (2007) Urinary catecholamine and metanephrine to creatinin ratios in healthy dogs and in hospital environment and in two dogs with pheocromocytoma. *Journal of veterinary Medicine* vol. 21, ss. 388-393.

Le Bars et al (2001) Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews* vol 53, ss.597-652

Ledowski et al. (2010) Monitoring of intra-operative nociception: skin conductance and surgical stress index versus stress hormone plasma levels. *Journal of the association of anaesthetist of great Britain and Ireland*. Vol. 65 ss.1001-1006.

Lemke et al (2002) Effects of preoperative administration of ketoprofen on anesthetic requirements and signs of postoperative pain in dogs undergoing elective ovariohysterectomy. *Journal of the American veterinary medical association*. Vol. 221 ss. 1268-1275

Myles PS, Hunt JO, Fletcher H, et al. (2002) Remifentanyl, fentanyl, and cardiac surgery: a double-blinded. Randomized, controlled trial of costs and outcomes. *Anesth Analg*, vol 95, ss. 805-812.

Palsgaard Van Lue (2009), DVM. Ph.D. Thesis: Evaluation of surgical stress related changes in hemostatic, inflammatory and neuro-endocrine parameters following surgical procedures in pigs and dogs. *University of Copenhagen*.

Parker SD, Breslow MJ, Frank SM, et al. (1995) Catecholamine and cortisol responses to lower extremity revascularization. Correlation with outcome variables. *Crit Care Med*. Vol 23, ss. 1954-1961.

Reese C.J, Trotter E.J, Short C.E, Erb H.N, Barlow L.L. (2000) Assesing the efficacy of perioperative carprofen administration in dogs undergoing surgical repair of a ruptured cruciate ligament. *Journal of the American animal hospital association*. Vol. 36 ss. 448-455.

Sjaastad, Hove, Sand (2010). *Physiology of domestic Animals*, Textbook.

Westerman et al. (2002). Simple rapid and sensitive determination of epinephrine and norepinephrine in urine and plasma by non-competitive enzyme immunoassay, compared with HPLC method. *Clin Lab.*, vol. 48 (1-2), ss.61-71